

ФБГОУ ВО
«Волгоградский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

МЕТОДЫ ФАРМАКОПЕЙНОГО АНАЛИЗА

СОЛОДУНОВА Г.Н.

ФИЗИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ
ФАРМАКОПЕЙНОГО АНАЛИЗА
ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Занятие 13
IV семестр

ФИЗИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ФАРМАКОПЕЙНОГО АНАЛИЗА ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

ЗАНЯТИЕ № 13

IV семестр

ВОПРОСЫ К ЗАНЯТИЮ

1. Хроматографические методы анализа. Классификация.
2. Разделение хроматографических методов по различным признакам.
3. Способы получения хроматограмм.
4. Хроматография в тонком слое.
5. Колоночная адсорбционная хроматография.
6. Газовая хроматография.
7. Ионообменная хроматография.

1. Хроматографические методы анализа. Классификация

Хроматография впервые была введена в аналитическую практику русским ботаником М.С. Цветом. В первых же работах с помощью этого метода М.С. Цвет установил, что считавшийся однородным зеленый пигмент растений хлорофилл на самом деле состоит из нескольких веществ. При пропускании экстракта зеленого листа через колонку, заполненную порошком мела, и промывании петролейным эфиром он получил несколько окрашенных зон, что несомненно говорило о наличии в экстракте нескольких веществ. Впоследствии это было подтверждено другими исследователями. Этот метод он назвал *хроматографией*, хотя сам же указал на возможность разделения и бесцветных веществ.

Вещество подвижной фазы непрерывно вступает в контакт с новыми участками адсорбента и частью адсорбируется, а адсорбированное вещество контактирует со свежими порциями подвижной фазы и частично десорбируется.

Таким образом, основным условием для осуществления хроматографического процесса – процесса разделения веществ на колонке – М.С. Цвет считал различие в адсорбируемости.

В настоящее время используются следующие хроматографические методы анализа:



Хроматография – это физико-химический метод разделения веществ, основанный на распределении компонентов между двумя фазами - неподвижной и подвижной. Неподвижной (стационарной) фазой обычно служит твердое вещество (его часто называют *сорбентом*) или пленка жидкости, нанесенная на твердое вещество.

Хроматография – процесс, основанный на *многократном повторении* актов сорбции и десорбции вещества при перемещении его в потоке подвижной фазы вдоль неподвижного сорбента. Разделение сложных смесей хроматографическим способом основано на различной сорбируемости компонентов смеси. В процессе хроматографирования так называемая подвижная фаза (элюент), содержащая анализируемую пробу, перемещается через неподвижную фазу. Обычно неподвижная фаза представляет собой вещество с развитой поверхностью, а подвижная – поток газа или жидкости, фильтрующейся через слой сорбента. Неподвижную фазу обычно помещают в стеклянную (или металлическую) трубку, называемую колонкой. В зависимости от силы взаимодействия с поверхностью сорбента (за счет адсорбции или по какому-либо еще механизму) компоненты перемещаются вдоль колонки с разной скоростью. Одни компоненты остаются в верхнем слое сорбента, другие, с меньшей степенью взаимодействия с сорбентом, оказываются в нижней части колонки, некоторые покидают колонку вместе с подвижной фазой. Таким образом компоненты разделяются.

Хроматография – *гибридный аналитический метод*, в котором хроматографическая колонка – часть аналитической системы, сочетающей разделение и определение. Метод позволяет разделять многокомпонентную смесь, идентифицировать компоненты и определять ее количественный состав.

В отличие от ряда других методов, основанных на распределении компонентов между фазами, хроматография – это *динамический метод*,

обеспечивающий многократность актов сорбции-десорбции разделяемых компонентов, так как разделение происходит в потоке подвижной фазы. Этим обусловлена большая эффективность хроматографического метода по сравнению с методами сорбции и экстракции в статических условиях, поэтому хроматографическими методами возможно быстрое разделение сложных смесей, например аминокислот или редкоземельных элементов.

2. Классификация хроматографических методов по признакам

Хроматографией называется метод разделения смесей веществ, основанный на их многократном перераспределении между двумя контактирующими фазами, одна из которых неподвижна, а другая имеет постоянное направление движения. По механизму, лежащему в основе разделения, различают адсорбционную, распределительную, ионообменную и другие виды хроматографии.

В основу общепринятых классификаций многочисленных хроматографических методов положены следующие признаки:

✓ По агрегатному состоянию подвижной и неподвижной фаз.

По агрегатному состоянию фаз хроматографию разделяют на *газовую* и *жидкостную*.

- Газовая хроматография включает *газожидкостную* и *газотвердофазную*.
- Жидкостная – *жидкостно-жидкостную*, *жидкостно-твердофазную* и *жидкостно - гелевую*.

Первое слово в названии метода характеризует агрегатное состояние подвижной фазы, второе – неподвижной.

✓ По механизму взаимодействия сорбента и сорбата можно выделить несколько видов хроматографии:

- *распределительная хроматография* основана на различии в растворимости разделяемых веществ в неподвижной фазе (газожидкостная хроматография) или на различии в растворимости веществ в подвижной и неподвижной жидких фазах;
- *ионообменная хроматография* — на разной способности веществ к ионному обмену;
- *адсорбционная хроматография* — на различии в адсорбируемости веществ твердым сорбентом;
- *эксклюзионная хроматография* — на различии в размерах и формах молекул разделяемых веществ,
- *аффинная хроматография* — на специфических взаимодействиях, характерных для некоторых биологических и биохимических процессов.

- *осадочная хроматография*, основанная на образовании, отличающихся на растворимости осадков разделяемых веществ с сорбентом,
 - *адсорбционно-комплексобразовательная*, основанная на образовании координационных соединений разной устойчивости в фазе или на поверхности сорбента, и др. Следует помнить, что классификация по механизму весьма условна: ее используют в том случае, если известен доминирующий механизм; часто процесс разделения протекает сразу по нескольким механизмам.
- ✓ **По технике выполнения** выделяют
- *колоночную хроматографию*, когда разделение проводится в специальных колонках,
 - *плоскостную хроматографию*, когда разделение проводится на специальной бумаге (бумажная хроматография) *или в тонком слое сорбента (тонкослойная хроматография)*.
- ✓ **По цели хроматографирования** выделяют
- *аналитическую хроматографию* (качественный и количественный анализ);
 - *препаративную хроматографию* (для получения веществ в чистом виде, для концентрирования и выделения микропримесей);
 - *промышленную (производственную) хроматографию* для автоматического управления процессом (при этом целевой продукт из колонки поступает в датчик). Хроматографию широко используют для исследования растворов, каталитических процессов, кинетики химических процессов и т. п.

3. Способы получения хроматограмм

Подвижную фазу, вводимую в слой неподвижной фазы, называют *элюентом*, а подвижную фазу, выходящую из колонки и содержащую разделенные компоненты, - *элюатом*. В элюате тем или иным способом определяют содержание компонентов. Распределение разделяемых веществ в виде отдельных полос (зон) вдоль колонки представляет собой внутреннюю хроматограмму. Графическое изображение (часто получаемое с помощью самописца) распределения веществ в элюате называют внешней хроматограммой, или просто хроматограммой.

По **способу получения** хроматограмм различают *элюентную, вытеснительную и фронтальную хроматографии*.

Элюентная (проявительная) хроматография

Хроматографическую колонку промывают элюентом (раствором или растворителем), обладающим меньшей сорбируемостью, чем любое из разделяемых веществ. Затем в колонку вводят разделяемые вещества, растворенные в элюенте, и продолжают непрерывно пропускать элюент (процесс элюирования). При этом разделяемые вещества перемещаются вдоль

колонки с разными скоростями в соответствии с их сорбируемостью. Если скорости перемещения компонентов достаточно различаются, то на выходе из колонки сначала появляется наименее сорбируемый компонент, затем следующий компонент и т. д. В этом случае хроматограмма представляет собой несколько пиков, имеющих форму гауссовой кривой.

Самый простой вариант элюирования — *изократический*, при котором состав элюента не меняется. Его используют при разделении соединений с близким сродством к неподвижной фазе. В некоторых случаях используют градиентное элюирование, при котором состав элюента в процессе разделения компонентов изменяют по заданному закону. В этом случае элюирующая сила подвижной фазы возрастает, в результате чего сокращается время удерживания сильно сорбируемых веществ и улучшается разделение смеси.

Элюентная хроматография является наиболее распространенной в современном хроматографическом анализе.

Вытеснительная хроматография

Сначала в колонку вводят небольшое количество раствора разделяемых веществ. Затем через колонку непрерывно пропускают раствор вещества (вытеснитель), обладающего большей сорбируемостью, чем любое из разделяемых веществ. По мере продвижения по колонке элюент вытесняет вещество А, которое в свою очередь вытесняет вещество В, и т. д. В результате анализируемая смесь перемещается впереди фронта вытеснителя и скорость движения веществ равна скорости движения вытеснителя. Разделяемые вещества и на колонке, и в элюате располагаются последовательно друг за другом. Каждый из компонентов выделяется в чистом виде, но не количественно, так как зоны компонентов не разделены промежутками чистого сорбента.

Фронтальная хроматография.

В колонку непрерывно вводят раствор разделяемых веществ, сорбируемость которых увеличивается в ряду $A < B < C$. Из колонки сначала будет вытекать чистый растворитель, затем, когда сорбент насытится наименее сорбируемым веществом А, оно появится в элюате. Когда сорбент насытится веществом В, элюат будет содержать оба эти вещества и т. д. Когда же сорбент будет полностью насыщен всеми компонентами смеси, состав элюата совпадет с составом раствора, вводимого в колонку. При фронтальном способе получения хроматограммы в чистом виде можно выделить лишь одно вещество. Однако внешняя хроматограмма дает представление о числе компонентов в анализируемом растворе.

4. Хроматография в тонком слое сорбента

ТСХ используется при испытаниях лекарственных средств на подлинность (идентификация анализируемых веществ), посторонние примеси (испытание на чистоту) полуколичественным и количественным методами.

Хроматографический процесс, протекающий при движении подвижной фазы в тонком слое сорбента (носителя), нанесенном на инертную поверхность, называется **хроматографией в тонком слое сорбента**. Неподвижной фазой в данном случае являются сам твердый сорбент, либо вещества, предварительно на него нанесенные. Чаще всего механизм хроматографического разделения является адсорбционным. Перемещение подвижной фазы в слое сорбента осуществляется восходящим методом. Для хроматографирования могут использоваться готовые пластинки с закрепленным слоем сорбента, выпускаемые промышленностью, и пластинки со специально приготовленным тонким слоем сорбента.

Нанесение проб

Нанесение проб осуществляют:

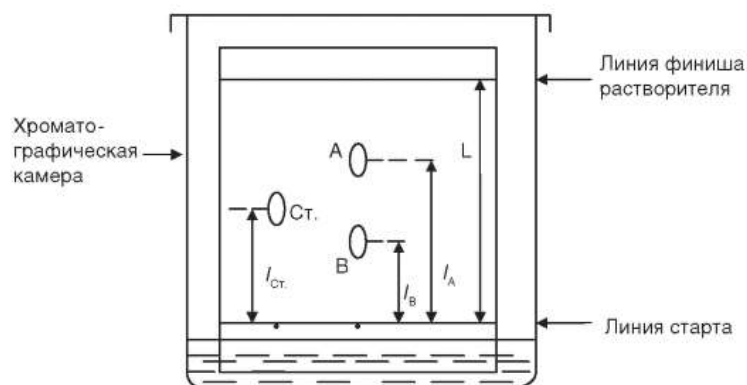
- калиброванными капиллярами с тупым концом;
- поршневыми микрошприцами с тупым концом иглы;
- полуавтоматическими или автоматическими приборами для нанесения образцов.

Нанесение осуществляют двумя способами: в виде пятен 2 – 5 мм диаметром (1 – 2 мм на высокоэффективных пластинках) с промежутками между пятнами не менее 10 мм и в виде полос длиной 10 – 20 мм (5 – 10 мм на высокоэффективных пластинках) с промежутком между ними не менее 10 мм. Расстояние до линии старта от нижнего края пластинки должно составлять не менее 10 мм. Если в методике фармакопейной статьи предусмотрено использование как обычных, так и высокоэффективных пластинок, условия для высокоэффективных пластинок должны быть указаны в квадратных скобках. Расстояния на стартовой линии от боковых краев пластинки до мест нанесения первой и последней проб должны составлять не менее 10 мм. В процессе нанесения проб недопустимо повреждение сорбента на линии старта. Подсушивание нанесенных проб осуществляют в токе холодного или теплого воздуха, либо на специальном столе с электроподогревом.

Визуальная оценка

Обнаружение (детектирование) зон адсорбции после проведения качественной и полуколичественной ТСХ осуществляют следующими способами:

- в видимом и ультрафиолетовом свете (при определенной длине волны);
- опрыскиванием растворами обнаруживающих реагентов;
- выдерживанием в парах обнаруживающего реагента;
- погружением в растворы обнаруживающих реагентов с использованием для этих целей специальных камер.



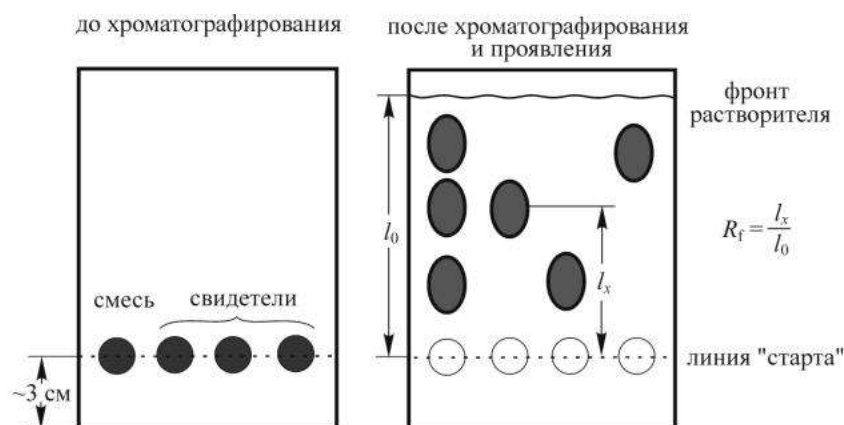
При хроматографировании анализируемые вещества образуют на пластинке круглые или овальные пятна (зоны). Совокупность пятен, полученных при хроматографировании анализируемого образца, называется **хроматограммой**. Подвижность вещества при хроматографировании характеризуется величиной R_f представляющей собой отношение средних скоростей перемещения вещества и подвижной фазы за время получения хроматограммы. На экспериментально определяемые значения R_f заметно влияют условия хроматографирования. Более точной оценкой хроматографической подвижности, мало чувствительной к влиянию случайных отклонений, является величина R_s , представляющая собой отношение величины R_f одного вещества к величине R_f другого вещества, принятого за стандарт. Обычно выбор стандарта осуществляют так, чтобы величины R_s лежали в пределах 0,5 - 2,0. Величины R_f и R_s используют для ориентировочной идентификации веществ. Подлинность определяется при одновременном хроматографировании на одной пластине анализируемого и аутентичного образца одного и того же вещества. Если образцы идентичны, соответствующие им пятна на хроматограммах имеют одинаковый вид и равные значения R_f . Для цели идентификации иногда целесообразно хроматографировать смесь равных количеств анализируемого и аутентичного образцов данного вещества. На хроматограмме должно наблюдаться одно пятно. Условия хроматографирования следует подбирать так, чтобы значения R_f были отличны от 0 и 1. При испытаниях на чистоту примеси и основного вещества должны иметь разные значения R_f .

Обработка хроматограмм:

Для обнаруженных пятен вычисляют величину R_f по уравнению:

$$R_f = \frac{a}{b},$$

где "а" - расстояние от линии старта до центра пятна; "b" - расстояние от линии старта до фронта подвижной фазы.



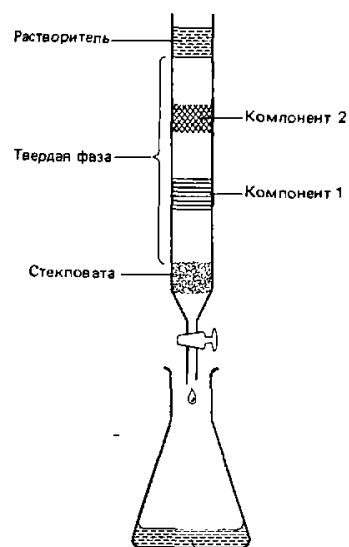
$$R_f = \frac{\text{Расстояние от линии старта до середины пятна вещества } (l_x)}{\text{Расстояние, пройденное растворителем от линии старта } (l_0)}$$

5. Колоночная адсорбционная хроматография

Колоночная хроматография представляет собой простейший вариант адсорбционной хроматографии. Она используется для разделения смесей твердых веществ. В качестве стационарной фазы используется какой-либо твердый адсорбент, а в качестве подвижной фазы – какой-либо растворитель.

Разделение может происходить как за счёт образования временных связей между разделяемыми веществами и неподвижной фазой колонки (адсорбционная хроматография), так и по иным принципам (например, эксклюзионная хроматография)..

Колонка характеризуется материалом, из которого состоит неподвижная фаза, внутренним диаметром и длиной. Размеры колонок зависят от количества разделяемых веществ и типа хроматографии. На колонках разного калибра можно разделять как микрограммы, так и килограммы различных веществ.



В качестве хроматографических колонок используют стеклянную бюретку 8-12 мм и длиной 25-30 см. Колонку закрепляют штативом. На дно колонки (перед сужением) кладут кусок стеклянной ваты. Оксид алюминия (для хроматографии) сеют через сито (0,25 мм). Сорбент засыпают в колонку в сухом виде или в виде суспензии в таком растворителе, в котором будет происходить хроматографирование.

Для набивки колонок твердой фазой существует два основных метода, *сухой и мокрый*. В первом случае колонку сначала наполняют сухим порошком, после чего пропускают подвижную фазу (жидкость или газ). Во втором случае колонку наполняют суспензией наполнителя в подвижной фазе.

Если подвижная фаза является жидкой, то в обоих случаях следует предусмотреть отсутствие пузырей воздуха в готовой колонке, что может повлиять на качество хроматографии или полностью её заблокировать (необходимо слегка постукивать по ней для равномерного осаждения сорбента). Кроме того, всегда существует опасность выхода колонки из строя в результате попадания в неё недопустимых веществ (нерастворимые вещества или слишком активные молекулы, забивающие канал колонки).

Сорбент не должен быть заполнен доверху колонки. Затем сверху постепенно доливают раствор в таком количестве, чтобы над поверхностью адсорбента всегда оставался небольшой слой жидкости. Раствор смеси веществ, подлежащих разделению, пропускают через стеклянную трубку, т. е. адсорбционную колонку (в случае проведения колоночной хроматографии), заполненную адсорбентом (силикагелем, Al_2O_3 , $CaCO_3$ и др.) (рис.4). В результате различной способности к адсорбции и, соответственно, десорбции веществ, входящих в состав смеси, они будут адсорбироваться на различной высоте столба адсорбента, образуя хроматографические зоны. При этом вещества, которые легче адсорбируются, будут располагаться в верхней части колонки, а те, которые адсорбируются труднее, образуют нижнюю зону.

Когда раствор полностью протечет через колонку, вливают чистую элюент и начинают проявления хроматограммы. Наблюдая за разделением окрашенных веществ, следят за образованием цветных зон. Если компоненты смеси необходимо выделить, то хроматограмму элюют, продолжая добавлять растворитель. Постепенно слои разделенных веществ спускаются вниз колонки. Их вымывают из колонки и собирают в отдельные приемники.

Если адсорбент был бесцветным или белым, а адсорбируемые вещества – окрашенными, то на адсорбенте появляются цветные зоны, образующие хроматограмму. Если адсорбируемые вещества бесцветны, то образуемые ими зоны тоже бесцветны. В этом случае их приходится «проявлять» пропусканием через колонку реактива, который образует с адсорбируемыми веществами или ионами цветные соединения, окрашивая бесцветные зоны в соответствующие цвета. В случае веществ, способных флуоресцировать в УФ-лучах, зоны можно наблюдать (проявлять) при облучении колонки.

Четкие зоны компонентов при разделении смеси получают очень редко. Чаще всего эти зоны расположены очень близко друг к другу, и их приходится «раздвигать». Это достигается пропусканием через колонку подходящего растворителя, который десорбирует разделяемые компоненты с различной скоростью. В результате они с различной скоростью продвигаются вместе с растворителем, и разделение компонентов становится более четким вследствие разной скорости элюирования отдельных компонентов. При этом через колонку медленно, с постоянной скоростью пропускают элюент – растворитель, который используют для разделения компонентов и их извлечения из слоя сорбента, и собирают отдельные порции вытекающего раствора, содержащие соответствующие компоненты смеси, называемые элюатами.

6. Газовая хроматография

Газовая хроматография – *физико-химический метод разделения летучих веществ*, основанный на распределении компонентов анализируемой смеси между двумя несмешивающимися и движущимися относительно друг друга фазами.

В зависимости от агрегатного состояния неподвижной фазы различают два вида газовой хроматографии – *газотвердофазную* (неподвижная фаза – твердый носитель: силикагель, уголь, оксид алюминия) и *газожидкостную* (неподвижная фаза – жидкость, нанесенная на инертный носитель).

Подвижной фазой служит инертный газ (газ-носитель), протекающий через неподвижную фазу, обладающую большой поверхностью. В качестве подвижной фазы используют водород, гелий, азот, аргон, углекислый газ. Газ-носитель не взаимодействует с разделяемыми веществами и неподвижной фазой.

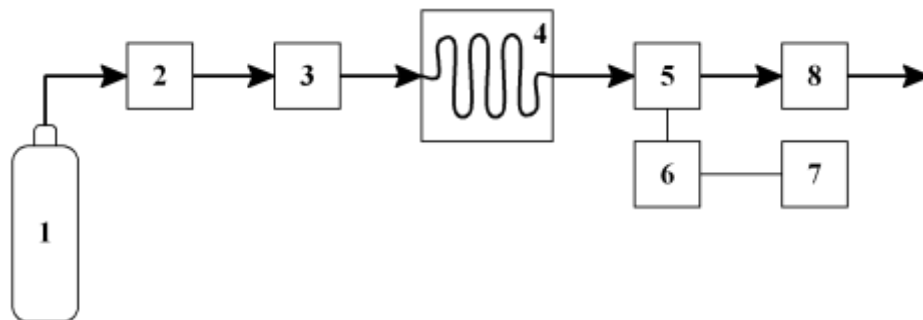
Газохроматографическим методом могут быть проанализированы газообразные, жидкие и твердые вещества с *молекулярной массой меньше 400*, удовлетворяющие определенным требованиям, главные из которых —

- летучесть,
- термостабильность,
- инертность и
- легкость получения.

Количественный анализ можно провести только в том случае, если вещество термостойко, т. е. испаряется в дозаторе воспроизводимо и элюируются без разложения. При разложении вещества на хроматограмме появляются ложные пики, относящиеся к продуктам разложения. Вещество не должно образовывать устойчивых сольватов при растворении в неподвижной жидкой фазе и реагировать с материалами, из которых изготовлены детали хроматографа.

Главным прибором для этого метода исследований является газовый хроматограф:

Схема газового хроматографа

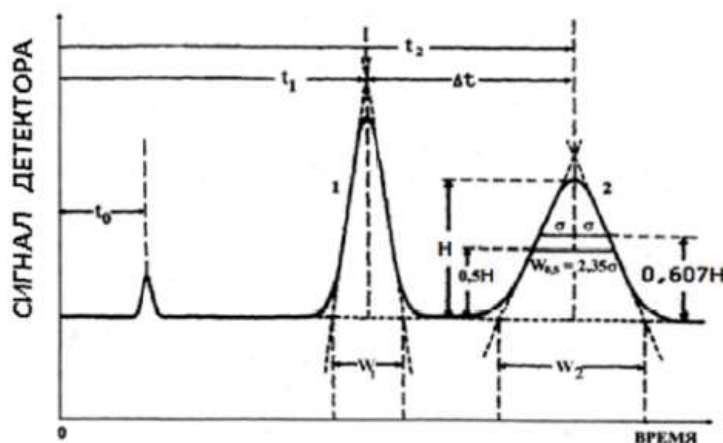


1. источник газа-носителя (подвижной фазы)
2. регулятор расхода газа носителя
3. устройство ввода пробы
4. хроматографическая колонка в термостате

5. детектор
6. электронный усилитель
7. регистрирующий прибор (самописец, компьютер)
8. расходомер

Результат хроматографического разделения представляется в виде хроматограммы. Хроматограмма представляет собой графическое представление сигнала детектора характеризующего концентрации веществ в элюате, от времени или объема подвижной фазы.

Схематически хроматограммы представляют собой последовательность гауссовых пиков на базовой линии (рис. 2).



Хроматограмма и основные хроматографические параметры:

1 и 2 — пики соединений 1 и 2;

t_1 и t_2 — соответствующие времена удерживания;

t_0 — время удерживания несорбирующегося вещества;

W_1 и W_2 — ширина пиков у основания;

$W_{0,5}$ — ширина пика на половине его высоты (предполагается гауссова форма пиков)

Базовая линия — сигнал от подвижной фазы.

Пик — часть хроматограммы, регистрирующая отклик детектора. Пик отображает постепенное нарастание концентрации вещества и последующее ее уменьшение.

Основание пика — продолжение базовой линии, соединяющее начало и конец пика.

Площадь пика (S) — площадь хроматограммы, заключенная между кривой, описывающей пик, и его основанием.

Высота пика (H) — расстояние от максимума пика до его основания, измеренное параллельно оси отклика детектора.

Время удерживания (t_R или t) — время, необходимое для элюирования вещества. Соответствует времени появления максимума пика на хроматограмме.

Объем удерживания (V_R) — объем подвижной фазы, необходимый для элюирования вещества. Может быть вычислен по времени удерживания и скорости потока (F).

$$V_R = F \cdot t_R.$$

Объем удерживания, в отличие от времени удерживания, не зависит от скорости потока.

Содержание компонентов смеси вычисляется по формуле:

$$\omega_i = S_i \cdot k_i / \sum S_i \cdot k_i \cdot 100\% ,$$

где:

ω_i – массовая доля i -го компонента в смеси, %;

S_i – площадь пика i -го компонента;

k_i – поправочный коэффициент, определяемый чувствительностью детектора к i -му компоненту.

Области применения газовой хроматографии

ГХ – один из самых современных методов многокомпонентного анализа, отличительные черты – экспрессность, высокая точность, чувствительность, автоматизация. Метод позволяет решить многие аналитические проблемы. Количественный ГХ анализ можно рассматривать как самостоятельный аналитический метод, более эффективный при разделении веществ, относящихся к одному и тому же классу (углеводороды, органические кислоты, спирты и т. д.). В фармацевтическом анализе газовая хроматография используется для оценки чистоты, установления подлинности и количественного определения лекарственных средств в тестах «Посторонние примеси», «Однородность дозирования», «Растворение», «Количественное определение», «Остаточные органические растворители» и др.

ГХ широко используют как серийный метод анализа органических соединений.

Этот метод незаменим в нефтехимии (бензины содержат сотни соединений, а керосины и масла – тысячи), его используют при определении пестицидов, удобрений, лекарственных препаратов, витаминов, наркотиков и др. Методом газовой хроматографии можно определять металлы, а также определять почти все элементы периодической системы в виде летучих комплексов.

8. Ионообменная хроматография

В практике количественного анализа метод ионообменной хроматографии применяется только при анализе растворов, но он не имеет самостоятельного значения для определения количеств вещества, а применяется в основном как метод разделения многокомпонентных смесей, а также для концентрирования микропримесей из растворов.

Количественную оценку содержания вещества проводят после хроматографического разделения подходящими химическими или физико-химическими методами.

Классификация, состав и свойства ионитов

Ионообменная хроматография – это один из видов хроматографического метода, в основе которого лежит обратимый процесс обмена между ионами анализируемого вещества и ионогенными группами сорбентов, называемых ионитами.

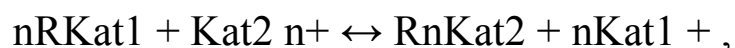
Иониты – это твердые минеральные или органические вещества как естественного, так и синтетического происхождения, практически не растворимые в воде и органических растворителях, но способные к набуханию в них. К природным неорганическим ионообменникам можно отнести цеолиты (кристаллические силикаты) и монтмориллониты, к органическим – целлюлозу и гуминовые кислоты. Еще в древние времена было известно о способности почвы опреснять морскую воду и о засолении почвы при фильтровании воды из каналов.

Гуминовые кислоты, являясь высокомолекулярными соединениями амфолитной природы, способны обменивать в зависимости от pH среды как анионы, так и катионы.

Особое распространение получили синтетические ионообменные смолы. Открытая Г. Штаудингером полимеризация стирола и дивинилбензола (получение «сшитого» полистирола) и прививка к такому полимеру сульфогрупп позволили создать массовые синтетические органические ионообменники.

Ионообменная группа состоит из фиксированного иона и противоиона (обменного иона). Фиксированный ион прочно связан с матрицей макрорадикала и придает ей соответствующие свойства и заряд, который компенсируется обменными ионами. Если в качестве фиксированного иона в составе ионита находится анион, то суммарный отрицательный заряд макрорадикала компенсируется способными к обмену катионами. Такой ионит обладает катионообменной функцией и называется катионитом. При фиксации катиона макрорадикал ионита несет положительный заряд, который компенсируется свободными к обмену анионами. Такой ионит называется анионитом и способен обмениваться анионами в растворе электролита. Существуют также иониты, обладающие амфотерными свойствами, — амфолиты, которые при различных значениях pH могут осуществлять обмен катионов и анионов.

Катиониты содержат обычно следующие функциональные химически активные группы, обменным ионом в которых является водород или натрий, способный замещаться другими катионами из воды: сульфогруппу – SO₃H, карбоксильную группу –COOH и фенольную группу –ОН. Катиониты, содержащие сульфогруппу, являются сильнокислотными и способны к обмену катионов как в кислой, так и в щелочной средах. Катиониты, содержащие карбоксильные и фенольные группы, являются слабокислотными и способны к обмену катионов только в щелочной среде. Схематично реакцию катионного обмена изображают:



где R – высокомолекулярная матрица ионита с прикрепленной неподвижной частью функциональной группы; 48 Kat1, Kat2 – катион, составляющий подвижную часть функциональной группы ионита, и катион, удаляемый из раствора, соответственно.

Аниониты содержат в качестве функциональных групп различные аминогруппы ($[-N(CH_3)_3]^+ OH^-$, $[-NH(CH_3)_2]^+ OH^-$, $[-NH_2CH_3]^+ OH^-$, $[-NH_3]^+ OH^-$) или радикалы других органических оснований. В зависимости от химического состава, аниониты делятся на слабоосновные (содержат первичные, вторичные, третичные аминогруппы), способные к обмену анионами только в кислой среде, и сильноосновные (содержат четвертичные аммониевые основания), способные к обмену анионами, как в кислой, так и в щелочной средах.

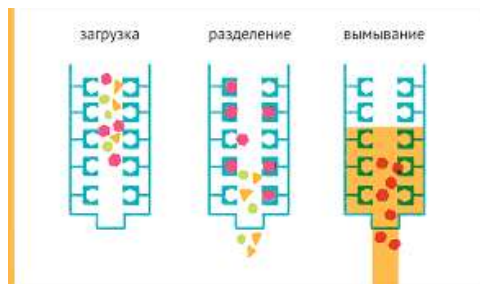
Иониты, относящиеся к ВМС, обладают следующими специфическими свойствами:

- набухаемостью,
- нерастворимостью в воде,
- механической
- прочностью,
- химической и термической стойкостью,
- способностью к реакциям ионного обмена.

Характеристикой ионообменной способности ионита является его величина рабочей обменной ёмкости (РОЕ), которая характеризуется количеством ионов, поглощённых ионитом при пропускании раствора солей или кислот определённой концентрации через лабораторный или промышленный фильтр, загруженный испытуемым ионитом, до начала «проскока» в фильтрат поглощаемых ионов. РОЕ ионита выражается в граммэквивалентах ионов, поглощённых 1 м³ набухшего ионита. Статическая обменная ёмкость (СОЕ) определяется по изменению концентрации сорбирующихся ионов в определённом объёме раствора при равновесии в данных рабочих условиях:

$$COE = \frac{(C_{исх} - C_{кон}) V_{p-ра}}{V_{ионита}}$$

При разделении смеси катионов методом ионообменной хроматографии в верхнюю часть хроматографической колонки, наполненной, например, катионитом в Н-форме, вводится смесь разделяемых катионов. Поскольку их сорбируемость различна, то происходит их разделение – на слое катионита образуется хроматограмма, представляющая собой отдельные зоны разделяемых катионов. Для получения компонентов в чистом виде производят элюирование (вытеснение или вымывание) отдельных зон раствором кислоты при постепенно возрастающей ее концентрации (градиентное элюирование).



Таким образом получают ряд элюатов, содержащих отдельные катионы, в которых их определяют качественно, а если нужно, – и количественно.

Решение типовых задач по теме «Хроматографические методы»

Задача 1

Определить массовую долю (%) компонентов газовой смеси по следующим данным:

Компонент:	Пропан	Бутан	Пентан	Циклогексан
S , мм ²	175	203	182	35
k	0,68	0,68	0,69	0,85

Решение: Расчеты проводим по методу внутренней нормализации, согласно которому:

$$\omega_i = S_i \cdot k_i / \sum S_i \cdot k_i \cdot 100\%,$$

где ω_i – массовая доля i -го компонента в смеси, %; S_i – площадь пика i -го компонента; k_i – поправочный коэффициент, определяемый чувствительностью детектора к i -му компоненту.

Найдем приведенную суммарную площадь пиков:

$$\sum S_i \cdot k_i = 175 \cdot 0,68 + 203 \cdot 0,68 + 182 \cdot 0,69 + 35 \cdot 0,85 = 412,4.$$

Отсюда массовая доля (%) пропана равна

$$\omega(\text{пропана}) = (175 \cdot 0,68 / 412,4) \cdot 100\% = 28,6\%.$$

Ответ: Массовая доля пропана 28,6%.

Аналогично находим массовые доли ω (%) остальных компонентов смеси:
 $\omega(\text{бутана}) = 33,46\%$, $\omega(\text{пентана}) = 30,46\%$, $\omega(\text{циклогексана}) = 7,22\%$.

При выполнении анализа по методу внутреннего стандарта расчет проводят по формуле

$$\omega_i = (S_i \cdot k_i) / (S_{\text{ст}} \cdot k_{\text{ст}}) \cdot R \cdot 100\%,$$

где $S_{\text{ст}}$ – площадь пика вещества, введенного в качестве внутреннего стандарта; $k_{\text{ст}}$ – его поправочный коэффициент; R – отношение массы внутреннего стандарта к массе анализируемой пробы.

Задача 2

Реакционную массу после нитрования толуола проанализировали методом газожидкостной хроматографии с применением этилбензола в качестве внутреннего стандарта. Определить процент непрореагировавшего толуола по следующим экспериментальным данным:

Взято толуола, г	12,7500
Внесено этилбензола, г	1,2530

$S_{\text{толуола}}, \text{мм}^2$	307
$k_{\text{толуола}}$	1,01
$S_{\text{этилбензола}}, \text{мм}^2$	352
$k_{\text{этилбензола}}$	1,02

Решение: Расчет проводят по методу внутреннего стандарта, используя формулу:

$$\omega_i = (S_i \cdot k_i) / (S_{\text{ст}} \cdot k_{\text{ст}}) \cdot R \cdot 100\%,$$

Подставляем данные задачи в эту формулу:

$$\omega_i = (307 \cdot 1,01) / (352 \cdot 1,02) \cdot (1,2530 / 12,75) \cdot 100 = 8,49\%$$

Ответ: 8,49%.

Задача 3

Для хроматографического определения никеля на бумаге, пропитанной раствором диметилглиоксима, приготовили три стандартных раствора. Для этого навеску $0,2480 \text{ NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ растворили в мерной колбе на 50 мл. Затем из этой колбы взяли 5,0; 10,0 и 20,0 мл и разбавили в колбах на 50 мл. Исследуемый раствор также разбавили в мерной колбе на 50 мл.

Постройте калибровочный график в координатах $h - C_{\text{Ni}}$ и определите содержание никеля (мг) в исследуемом растворе, если высота пиков стандартных растворов равна $h_1 = 25,5$; $h_2 = 37,5$; $h_3 = 61,3$, а высота пика исследуемого раствора равна $h_x = 49,0$ мм.

Решение: Находим массу никеля в навеске $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, учитывая, что $M(\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O})$ и $M(\text{Ni})$ – молярные массы $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ и Ni соответственно равны 238 г/моль и 59 г/моль. Тогда масса никеля в исследуемой навеске $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ составит:

$$m_{\text{Ni}} = (59 \cdot 0,248) / 238 = 0,0615 \text{ г}$$

0,0615 г – 50 мл содержание никеля в первой колбе 0,00615 г/50мл

X г - 5 мл

0,0615 г – 50 мл содержание никеля во второй колбе 0,0123 г/50мл

X г - 10 мл

0,0615 г - 50 мл содержание никеля в третьей колбе 0,0246 г/50 мл

X г - 20 мл

На основании проведенных расчетов строим график в координатах: h , мм – содержание никеля (C , г/50 мл). На график наносим высоту пика исследуемого раствора $h=49$ мм и находим содержание никеля в исследуемом растворе $C = 18,45$ мг/50мл.

Ответ: 18,45 мг.

Контрольные вопросы по теме «Хроматографический анализ»

1. В чем сущность хроматографического разделения по методу:
 - а) газодсорбционной хроматографии;

- b) газожидкостной хроматографии;
 - c) распределительной жидкостно-жидкостной хроматографии;
 - d) осадочной хроматографии;
 - e) тонкослойной хроматографии;
 - f) ионообменной хроматографии?
2. Каковы области применения, достоинства и недостатки методов адсорбционной хроматографии?
 3. Какие требования предъявляются к адсорбентам и растворителям? Назовите наиболее распространенные растворители и адсорбенты в жидкостно-адсорбционной хроматографии.
 4. Какие способы применяют для определения эффективности хроматографических разделений?
 5. Каковы области применения, достоинства и недостатки методов газовой хроматографии?
 6. Какие требования предъявляются к жидкой фазе в газожидкостной хроматографии? Какие вещества используют в качестве жидкой фазы, в качестве твердого носителя?
 7. Дайте определения следующих понятий:
 - a) высота хроматографического пика;
 - b) ширина хроматографического пика;
 - c) приведенный удерживаемый объем;
 - d) общий удерживаемый объем.
 8. В чем сущность качественного хроматографического анализа по величине удерживаемого объема?
 9. В чем сущность методов количественного анализа:
 - a) абсолютной калибровки;
 - b) внутренней нормализации (нормировки);
 - c) внутреннего стандарта?
 10. В чем сущность ионообменной хроматографии?
 11. В чем сущность распределительной хроматографии на бумаге? Дайте определение R_f .
 12. На чем основан качественный анализ методами осадочной и распределительной хроматографии на бумаге?
 13. Приведите примеры аналитических определений методами осадочной и распределительной хроматографии на бумаге, укажите основные способы измерений при количественных определениях.
 14. Каковы области применения, достоинства и недостатки
 - a) тонкослойной хроматографии;
 - b) осадочной хроматографии;
 - c) ионообменной хроматографии?